

Untersuchungen zur Zuverlässigkeit quantitativer
Apolipoproteinbestimmungen (Apo-A; Apo-B)
mittels radialer Immundiffusion (RID)

von

Edith Vieweg

aus

Tröstau

Diss. Erlangen
1984

1984 No 262



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Medizinischen Klinik mit Poliklinik

der Universität Erlangen-Nürnberg

Direktor: Prof. Dr. med. L. Demling

Untersuchungen zur Zuverlässigkeit quantitativer
Apolipoproteinbestimmungen (Apo-A; Apo-B)
mittels radialer Immundiffusion (RID)

INAUGURAL – DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde

der Medizinischen Fakultät

der Friedrich - Alexander - Universität

Erlangen-Nürnberg

vorgelegt

von

Edith Vieweg

aus

Tröstau

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg

Dekan: Prof. Dr. F. Wolf
Referent: Priv.-Doz. Dr. D. Sailer
Korreferent: Prof. Dr. L. Demling
Tag der mündlichen Prüfung: 30.04.1984

Meinen Eltern,
meinem Mann und
meiner Tochter
gewidmet.

Inhaltsverzeichnis

	<u>Seite</u>
1. Einleitung	1
2. Material und Methoden	3
2.1. Prinzip der Meßmethode	3
2.2. Untersuchungsmaterial und Auswertung der Ergebnisse	3
2.3. Meßreihen	4
2.4. Statistische Methoden	5
3. Ergebnisse	6
3.1. Präzision	6
3.2. Richtigkeitskontrolle	6
3.3. Empfindlichkeit	6
3.4. Füllungsvolumina	7
3.5. Lagerung	7
4. Diskussion	9
5. Zusammenfassung	11
6. Tabellen und Abbildungen	12
7. Literaturverzeichnis	24

1. Einleitung

Mit zunehmender Inzidenz der atheromatösen Gefäßerkrankungen erscheint es in Hinblick auf präventive Maßnahmen sinnvoll, mit Hilfe eines einfachen Screening-Verfahrens cardiovascular gefährdete Patienten zu erfassen (3,5). Bislang dienten zur Beurteilung des atherogenen Risikos Serumcholesterinbestimmungen (8,10,16,17,32) und die differenzierte Lipoproteinbestimmung (HDL, VDL und VLDL) sowie die Errechnung der LDL/HDL-Ratio (19). Dabei wird dem HDL-Cholesterin eine vasoprotektive (12,22,32) und dem LDL-Cholesterin eine atherogene Wirkung zugeschrieben (13,23,18). Bei Vorhandensein hoher LDL-Konzentrationen scheint jedoch die Schutzwirkung des HDL-Cholesterins aufgehoben zu sein (9,14,28). Zudem gilt die HDL-Cholesterinbestimmung bei Patienten im höheren Lebensalter als ungeeignet (4,24).

Zahlreiche Untersuchungen bei Patienten mit angiographisch gesicherter koronarer Herzerkrankung belegen, daß das atherogene Risiko mittels der Apolipoproteinquantifizierung besser diskriminiert werden kann als durch die Erfassung der einzelnen Cholesterinfraktionen (4,27,31).

Auf die entscheidende Rolle der Apolipoproteine bei der Pathogenese der Arteriosklerose wurde schon unmittelbar nach Bekanntwerden der Funktion von Apolipoprotein A (Apo A), speziell Apo A I, und Apolipoprotein B (Apo B) im Lipidstoffwechsel geschlossen.

Die sicherste Aussage über das Vorhandensein eines Schutzfaktors im Serum würde über eine direkte Erfas-

sung der eigentlichen vasoprotektiven Subfraktionen HDL_{2a} und HDL_{2b} getroffen werden können (2,20,30). Die dazu erforderlichen Untersuchungen sind jedoch technisch aufwendig und nur in speziell eingerichteten Laboratorien durchführbar.

Wesentlich praktikabler ist die Bestimmung von Apo A und Apo B, da maximal 96,6 % der Konzentrationsänderungen von Apo A_I aus Änderungen von Apo A hervorgehen sollen und Apo B ein Maß für die Absolutkonzentration von LDL darstellt (21). Mit der radialen Immundiffusion (RID) steht nunmehr ein Analysenverfahren zur Verfügung, das ohne großen technischen, personellen und zeitlichen Aufwand durchgeführt werden kann.

In wieweit das auf dieser Methode basierende industriell hergestellte Analysenmaterial (M-Partigen, Behringwerke, Marburg) dem Präzisions- und Zuverlässigkeitsanspruch gerecht wird, soll im folgenden untersucht werden.

2. Material und Methoden

2.1. Prinzip der Meßmethode

Die quantitative Bestimmung der Apolipoproteine A und B erfolgte mittels radialer Immundiffusion (RID). Der Methodik liegt folgendes Prinzip zugrunde:

das apolipoproteininhaltige Serum reagiert stöchiometrisch mit dem spezifischen Antiserum, das in einem Agargel enthalten ist, unter Ausbildung eines Immunpräzipitationsringes. Das Quadrat des Durchmessers des Präzipitationsringes ist direkt proportional der gesuchten Apolipoproteinkonzentration.

2.2. Untersuchungsmaterial und Auswertung der Ergebnisse

Benutzt wurden handelsübliche M-Partigen-Platten der Fa. Behringwerke, Marburg, die in runden Plastikplatten das mit dem spezifischen Antiserum inkorporierte Agargel enthalten. Jede Platte hat 12 Löcher mit je 3,33 mm Durchmesser.

Zur Analyse wurde venöses Nüchternblut eines nicht selektierten Patientenkollektivs benutzt. Nach Gerinnung wurde das Blut 20 min bei 5000 U/min zentrifugiert und das gewonnene Serum mit Aqua bidest. verdünnt (Apo A 1:5 ; Apo B 1:2). Mit einer Mikroliterspritze (SGE Microlitre Syringes, Typ B) wurde das verdünnte Serum in die ausgestanzten Auftragstellen der für Apo A und Apo B spezifischen M-Partigenplatten eingefüllt. Nach einer Diffusionszeit von 2 (Apo B) bzw. 5 Tagen (Apo A) bei Raumtemperatur wurden die Durchmesser mit Hilfe eines

Meßprojektors für Immunanaysen (Fa. Behringwerke, Marburg) ausgemessen.

Zur Aufstellung einer Eichkurve wurden drei Auftragsstellen mit lyophilisiertem Referenzserum (Fa. Behringwerke, Marburg) mit genau definierter Apolipoproteinkonzentration (Standardserum) in verschiedenen Verdünnungsstufen gefüllt. Nach Ablesung der Präzipitationsringe wurden die quadrierten Durchmesser (mm^2) der Standardverdünnungen auf linearem Millimeterpapier als Funktion der Konzentration (mg/dl) aufgetragen, wobei der Schnittpunkt der Geraden mit der Ordinate bei einem Wert von $11,0 \pm 2,5 \text{ mm}$ lag.

Die Apolipoproteinkonzentrationen der zu untersuchenden Seren konnten nach Ausmessen der jeweiligen Präzipitationsringe auf der Eichkurve abgelesen werden.

2.3. Meßreihen

Die Präzision in der Reihe wurde durch mehrfache Analysen ($n=10$) eines Serums innerhalb einer Untersuchungsreihe ermittelt.

Mit Kontrollproben bekannter Apolipoproteinkonzentration erfolgte die Richtigkeitskontrolle. Hierzu wurden Referenzseren in unterschiedlichen Verdünnungsstufen benutzt.

Die Empfindlichkeit der Methode und der genaue Eichkurvenverlauf für die beiden Apolipoproteine wurden durch Verdünnung von Referenzseren genau definierten Apolipoproteingehaltes getestet und graphisch dargestellt.

Darüberhinaus wurden die Einflüsse der unterschiedlichen Füllungsvolumina und die Lagerung bei Raum-(+20°C), Kühltankschränke-(+4°C) und Tiefkühlagerung (-20°C) über einen Zeitraum von 14 Tagen untersucht. Untersuchungen zum Einfluß der Langzeitlagerung bei -20°C erfolgten über eine Lagerdauer von 6 Wochen.

2.4. Statistische Methoden

Die Prüfung auf Normalverteilung erfolgte mit dem Kolmogoroff-Smirnow-Test.

Zur Überprüfung der Signifikanz wurden der Friedman-, Bartlett-, Tukey- sowie der Kruskal-Wallis-Test verwendet.

3. Ergebnisse

3.1. Präzision

(Mittelwert, Standardabweichung und Variationskoeffizient)

Die Ergebnisse der Variationskoeffizienten (V_k) der Präzisionskontrolle in der Reihe (n=10) sind in der Tabelle 1 für jedes der 10 untersuchten Seren dargestellt. Sowohl für Apo A als auch für Apo B findet sich eine Streubreite an V_k -Werten von 1,6 bis 5,3 %.

Ein Zusammenhang zwischen den Variationskoeffizienten und den Absolutkonzentrationen konnte weder für Apo A noch für Apo B nachgewiesen werden.

3.2. Richtigkeitskontrolle

Die Richtigkeit der Methodik wurde mit Seren bekannten Apo A- und Apo B-Gehaltes durchgeführt. Erwartete und gefundene Konzentrationen sind in Tabelle 2 und graphisch in Abbildung 1 und 2 dargestellt. Eine geringe Abweichung der Meßansatzkonzentration vom Eichgeradenverlauf stellt sich für das Apo A nur im unteren Meßbereich dar (Abb. 1), die nach dem Friedman-Test nicht signifikant ist. Bei Apo B liegen die Werte bis zur größten Verdünnungsstufe (9 mg/dl) gut in Übereinstimmung mit dem Eichgeradenverlauf (Abb. 2).

3.3. Empfindlichkeit

Durch Verdünnungsversuche wurde die Empfindlichkeit ge-

prüft, die sich für beide Apolipoproteine als hoch erwies. Konzentrationen von 15 - 18 mg Apo A und 2,5 - 10 mg Apo B konnten sicher erfaßt werden (Tab.3 und 4).

3.4.Füllungsvolumina

Zur Prüfung des Einflusses der Füllungsvolumina auf die Konzentration der Apolipoproteine wurde Standardserum benutzt mit einem angegebenen Gehalt von 106 mg/dl für Apo A und von 76 mg/dl für Apo B. In Tab. 5 und Abb. 3 und 4 sind die Ergebnisse dargestellt. Es zeigt sich dabei, daß für Apo A eine geringgradige Überfüllung keinen Einfluß auf die Konzentration hat, während eine Unterfüllung ($<5\mu\text{l}$) zu signifikant niedrigeren Konzentrationen führt.

Die Apolipoprotein B-Konzentration ist vom Füllungsvolumen weitgehend unabhängig.

3.5.Lagerung

Da für die Prüfung der Aufbewahrungstemperaturen Patientenserum mit stark unterschiedlichen Konzentrationen benutzt wurden, wurde im folgenden die Ausgangskonzentration gleich 100 % gesetzt und die Abweichung hiervon in % angegeben. Die Quantifizierung der Apolipoproteine erfolgte nach Blutentnahme sowie nach 1, 2, 3, und 9 Tagen Lagerung.

Ein Vergleich der Meßergebnisse des bei verschiedenen Temperaturen aufbewahrten Patientenserums über 10 Tage ergibt nahezu konstante Ergebnisse bei Kühltemperatur ($+4^{\circ}\text{C}$) und Gefriertemperatur (-20°C), sowohl für Apo A

als auch für Apo B (Abb. 5, 6 und 7 ; Tab. 6 u. 7). Eine signifikante Konzentrationsabnahme ($p < 0,01$) wurde für Apo A bei Raumtemperatur festgestellt (Abb. 5). Apo B hingegen verhält sich über den Zeitraum von 10 Tagen auch bei diesen Lagerungsverhältnissen stabil.

Eine zusätzliche Untersuchung der Präzision über eine Lagerungszeit von 6 Wochen bei Tiefkühl Lagerung (-20°C) ergibt für Apo A und Apo B keine signifikanten Abweichungen der Konzentrationen vom Ausgangswert (Abb. 8 u. Tab. 8).

4. Diskussion

Die Apolipoproteinbestimmung mittels der radialen Immundiffusion liefert ausreichend gute Ergebnisse.

Der bei der Präzisionskontrolle in der Reihe errechnete mittlere Variationskoeffizient V_k liegt bei 1,3 - 5,3 % und somit unter dem bei klinisch-chemischen Analysen üblichen Wert von 5 % (26). Der von uns gefundene V_k stimmt gut mit den Werten überein (15), die in der Literatur mitgeteilt werden. Unter Laser-Nephelometrischen Bedingungen wurden für Apo A 4,2 % und für Apo B 4 - 6 % angegeben (11).

Ein Zusammenhang zwischen Variationskoeffizient und Absolutkonzentrationen der Proben besteht unmittelbar nicht.

Die Richtigkeitskontrolle stellt eine unabdingbare Voraussetzung für eine zuverlässige Diagnostik dar. Sie ergibt in unserer Untersuchung exakte Analysenresultate bei unterschiedlichen Verdünnungsstufen. Mit dem vom Hersteller für die Immundiffusionsplatten angegebenen Meßbereich von 10 - 145 mg/dl für Apo A bei einer 1:5-Verdünnung und von 7 - 97 mg/dl für Apo B bei einer 1:2 Verdünnung können normale und pathologische Serumwerte erfaßt werden.

Untersuchungen von Becker (6) bestätigen wie unsere Ergebnisse die Empfindlichkeit der RID-Platten für den unteren Konzentrationsbereich. Serum-Konzentrationen über dem oberen Grenzwert sind wegen mangelnder Antigenkonzentration und wegen Überschneidung benachbarter Präzipitationsringe nicht genau zu erfassen. Hier müs-

sen entsprechende Verdünnungen durchgeführt werden.

Für Routineuntersuchungen kommt der Lagerfähigkeit eine entscheidende Bedeutung zu. Wir konnten zeigen, daß eine Lagerungszeit von 10 Tagen bei $+4^{\circ}\text{C}$ und bis zu 6 Wochen bei -20°C Tiefkühlung möglich ist, ohne daß es zu Konzentrationsänderungen kommt. Im Einklang mit diesen Ergebnissen steht eine vergleichende Reproduzierbarkeitsuntersuchung der Apolipoproteine A über einen Zeitraum von 4 Wochen mittels Laser-Nephelometrie (31). Eine Zugabe von stabilisierenden und bakterienhemmenden Substanzen, wie sie von Albers (1) empfohlen wurde, ist nach unseren Ergebnissen zumindest für 6 Wochen Lagerung nicht nötig.

Als günstige Füllungsvolumina der Auftragsstellen haben sich 5 μl und 6 μl ergeben. Eine 2-4 μl -Füllung beinhaltet die Gefahr einer ungleichen Verteilung von Serum in den Auftragsstellen, eines prozentual größeren Pipettierfehlers und - zumindest für Apo A - eine signifikante Konzentrationsminderung, eine 7 μl - und 8 μl -Füllung die Gefahr von Überfüllung der Auftragsstellen und somit der Unschärfe der Präzipitationsringe.

Anhand der Ergebnisse unserer Untersuchung stellt sich die RID-Methode als zuverlässige und präzise Analyse der Apolipoproteine im Serum dar.

Als vorteilhaft erweist sich zusätzlich eine gute Reproduzierbarkeit der Meßergebnisse bis zu einem Zeitraum von 6 Wochen.

5. Zusammenfassung

Mit der radialen Immundiffusion (RID) wurden Präzision in der Reihe, Empfindlichkeit und Richtigkeit der Apolipoproteinbestimmung untersucht. Desweiteren wurden der Einfluß der Füllungsvolumina und der Lagerbedingungen bei +20°C, +4°C und -20°C bis zu 10 Tagen, sowie bei 20°C bis zu 6 Wochen überprüft.

Es zeigt sich dabei, daß die RID eine zuverlässige und wenig störanfällige Methodik der Apolipoproteinbestimmung darstellt. Lagerbedingungen bis zu 10 Tagen bei +4°C und -20°C führen zu keinen Konzentrationsänderungen. 10-tägige Lagerung bei Raumtemperatur hat nur einen geringen Einfluß auf die Apo A-Konzentration. Die Präzision in der Reihe lag bei 1-5 %, die Empfindlichkeit bis in den untersten Konzentrationsbereich ist sowohl für Apo A als auch für Apo B als gut zu bezeichnen. Selbst durch unterschiedliche Füllungsvolumina wird die Methodik nur wenig gestört.

6. Tabellen und Abbildungen

Tabelle 1: Präzisionsprüfung: Mittelwerte ($\bar{x}$), einfache Standardabweichung (s), Variationskoeffizient (V_k) und Anzahl der Bestimmungen (n) für Apolipoprotein A und B bei 10 Patientenseren

Probe	n	Apo A			Apo B		
		$\bar{x}$ (mg/dl)	s (mg/dl)	V_k (%)	$\bar{x}$ (mg/dl)	s (mg/dl)	V_k (%)
1	10	257	4,2	1,6	139	4,1	3,0
2	10	201	6,6	3,3	80	3,4	4,2
3	10	306	6,2	2,0	115	1,7	1,5
4	10	226	5,7	2,5	186	2,9	1,6
5	10	165	2,8	1,7	102	3,0	2,9
6	10	157	6,0	3,8	119	6,2	5,3
7	10	208	2,8	1,3	106	1,4	1,4
8	10	182	6,4	3,5	83	2,8	3,3
9	10	240	5,5	2,3	81	1,3	1,6
10	10	246	3,2	3,2	99	2,4	2,4

Tabelle 2: Richtigkeitskontrolle: Erwartete und gefundene Konzentrationen bei zunehmender Standardserumverdünnung und Differenzbetrag für Apo A (n=6) und Apo B (n=6).

Apolipoprotein	Verdünnung	Erwartet (mg/dl)	Gefunden (mg/dl)	Differenz (mg/dl)
Apolipoprotein A	1:1	106,00	105,80	0,20
	1:2	53,00	52,75	0,25
	1:3	35,33	35,17	0,16
	1:4	26,50	26,32	0,18
	1:6	17,67	17,50	0,17
	1:7	15,14	15,80	0,66
Apolipoprotein B	1:1	76,00	75,00	1,00
	1:2	38,00	37,60	0,40
	1:3	25,33	24,33	1,00
	1:4	19,00	18,63	0,37
	1:6	12,67	12,62	0,05
	1:7	10,86	10,93	0,07

Tabelle 3: Empfindlichkeit für Apo A: Erwartete und gefundene Konzentrationen und Differenzbetrag bei zunehmender Verdünnung von Patientenseren (n=6).

Probe	Konzentration (mg/dl)	Verdünnungsstufen				
		1:5	1:6	1:8	1:10	1:12
1	Erwartet	50,4	42,0	31,5	25,2	21,0
	Gefunden	49,0	42,0	31,0	25,0	21,7
	Differenz	1,4	0,0	0,5	0,2	0,7
2	Erwartet	51,8	43,2	32,4	25,9	21,6
	Gefunden	47,0	39,0	35,0	27,0	23,0
	Differenz	4,8	4,2	2,6	1,1	1,4
3	Erwartet	46,0	38,3	28,8	23,0	19,2
	Gefunden	46,0	38,0	29,0	23,0	19,0
	Differenz	0,0	0,3	0,2	0,0	0,2
4	Erwartet	43,2	36,0	27,0	21,6	18,0
	Gefunden	43,4	36,8	27,5	21,5	17,2
	Differenz	0,2	0,8	0,5	0,1	0,8
5	Erwartet	52,2	43,5	32,6	26,1	21,8
	Gefunden	52,6	43,3	30,3	27,5	22,0
	Differenz	0,4	0,2	2,3	1,4	0,2
6	Erwartet	38,0	31,7	23,8	19,0	15,8
	Gefunden	37,0	31,2	23,8	19,5	16,2
	Differenz	1,0	0,5	0,0	0,5	0,4

Tabelle 4: Empfindlichkeit für Apo B: Erwartete und gefundene Konzentration und Differenzbetrag bei zunehmender Verdünnung von Patientenseren (n=10)

Probe	Konzentration (mg/dl)	Verdünnungsstufen					
		1:2	1:4	1:6	1:8	1:10	1:12
1	Erwartet	65,5	32,8	21,8	16,4	13,1	10,3
	Gefunden	63,0	35,0	22,0	16,0	13,0	10,8
	Differenz	2,5	2,2	0,2	0,4	0,1	0,1
2	Erwartet	15,5	7,8	5,2	3,9	3,1	2,6
	Gefunden	15,5	7,5	5,2	3,8	3,3	2,5
	Differenz	0,0	0,3	0,0	0,1	0,2	0,1
3	Erwartet	48,0	24,0	16,0	12,0	9,6	8,0
	Gefunden	49,0	23,8	15,8	9,6	8,7	7,0
	Differenz	1,0	0,2	0,2	2,4	0,9	1,0
4	Erwartet	73,0	36,5	24,3	18,3	14,6	12,2
	Gefunden	75,5	40,0	24,5	17,9	14,0	11,3
	Differenz	2,5	3,5	0,2	0,4	0,6	0,9
5	Erwartet	42,0	21,0	14,0	10,5	8,4	7,0
	Gefunden	40,5	20,8	13,0	11,1	8,7	7,3
	Differenz	1,5	0,2	1,0	0,6	0,3	0,3
6	Erwartet	58,0	29,0	19,3	14,5	11,6	9,7
	Gefunden	60,5	30,8	19,3	15,1	10,8	8,8
	Differenz	2,5	1,8	0,0	0,6	0,8	0,9

Tabelle 5: Einfluß der Füllungsvolumina (n=5) auf die Absolutkonzentration der Apolipoproteine A und B: Mittelwerte ($\bar{x}$), einfache Standardabweichung (s) und Variationskoeffizient (V_k).

	Füllungsvolumina (l)						
	2	3	4	5	6	7	8
Apo A							
$\bar{x}$ (mg/dl)	81,4	97,6	97,8	105,2	104,8	105,2	108,4
s (mg/dl)	11,4	3,3	1,8	2,6	2,0	1,1	1,5
V_k (%)	14,1	3,4	1,8	2,5	2,1	1,0	1,4
Apo B							
$\bar{x}$ (mg/dl)	72,8	71,4	74,6	76,6	74,2	74,2	76,6
s (mg/dl)	5,1	2,2	2,2	1,1	1,6	1,1	0,5
V_k (%)	6,9	3,1	2,9	1,5	2,2	1,5	0,7

Tabelle 6: Apo A: Präzision von Tag zu Tag (n=10)^{*)}

Meßtage	$\bar{x}$ (%) Raumtemp.	$\bar{x}$ (%) Kühltemp.	$\bar{x}$ (%) Gefriertemp.
1. Tag	100,0	100,0	100,0
2. Tag	97,7	101,0	98,6
3. Tag	95,5	96,3	98,1
4. Tag	98,5	100,3	102,9
10. Tag	84,3	102,4	103,9

Tabelle 7: Apo B: Präzision von Tag zu Tag (n=10)^{*)}

Meßtage	$\bar{x}$ (%) Raumtemp.	$\bar{x}$ (%) Kühltemp.	$\bar{x}$ (%) Gefriertemp.
1. Tag	100,0	100,0	100,0
2. Tag	100,2	97,1	100,1
3. Tag	98,6	100,9	104,9
4. Tag	105,1	102,7	102,7
10. Tag	84,3	99,5	100,2

^{*)} Normierte Mittelwerte aus 10 Messungen (1. Tag = 100 %)

Tabelle 8: Präzision von Tag zu Tag bei Gefriertemperatur
(-20°C).^{*)}

Meßtage	$\bar{x}$ (%)	
	Apo A	Apo B
1. Tag	100	100
2 Wochen	97,2	101,2
4 Wochen	101,1	97,0
6 Wochen	101,2	103,8

^{*)} Normierte Mittelwerte $\bar{x}$ aus 10 Messungen (1. Tag = 100 %)

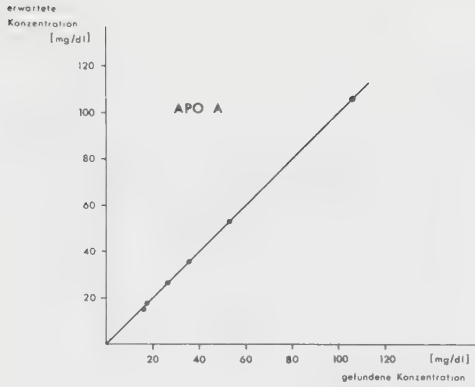


Abb. 1: Richtigkeitskontrolle quantitativer Apolipoprotein A-Bestimmung

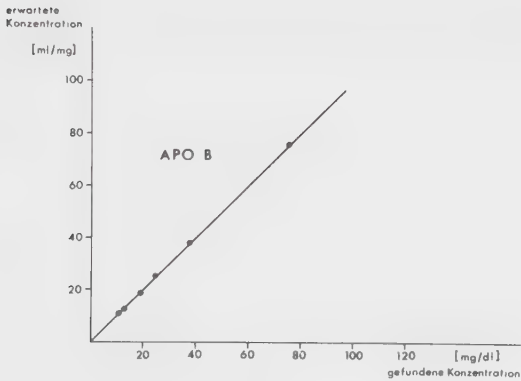
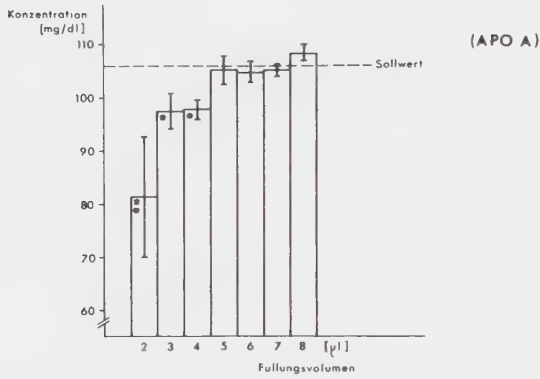


Abb. 2: Richtigkeitskontrolle quantitativer Apolipoprotein B-Bestimmung



*
* $p < 0,01$

* $0,05 > p > 0,01$

Abb. 3: Einfluß unterschiedlicher Füllungsvolumina auf die Konzentration von Apo A unter Verwendung von Standardserum mit definierter Apolipoproteinkonzentration (106 mg/dl)

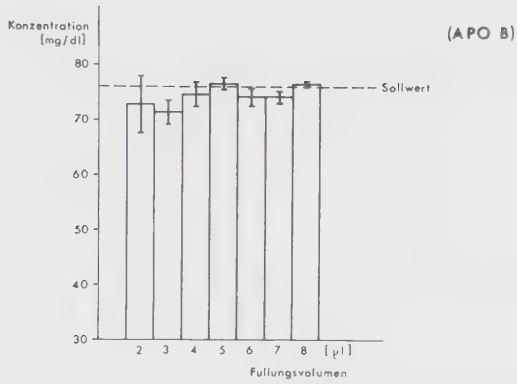


Abb. 4: Einfluß unterschiedlicher Füllungsvolumina auf die Konzentration von Apo B unter Verwendung von Standardserum mit definierter Apolipoproteinkonzentration (106 mg/dl)

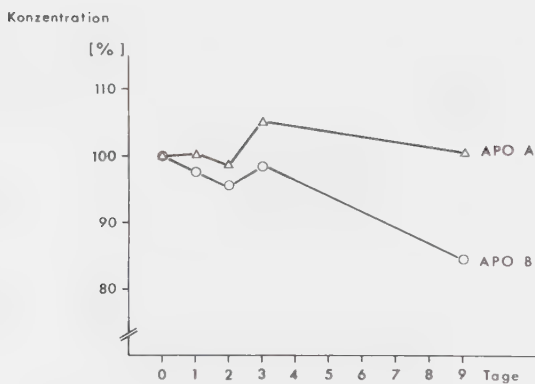


Abb. 5: Einfluß der Lagerdauer bei Raumtemperatur (+20°C) auf die Messung der Apolipoproteine A und B (Ausgangswert = 100 %)

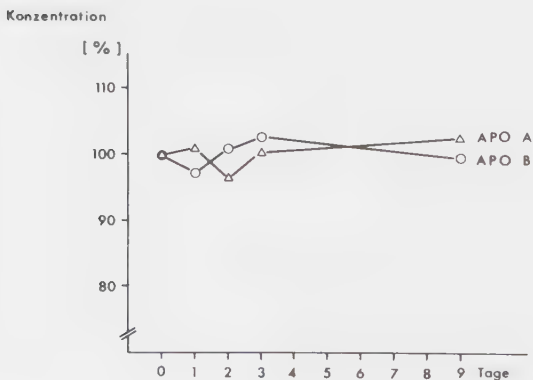


Abb. 6: Einfluß der Lagerdauer bei Kühltemperatur (+4°C) auf die Messung der Apolipoproteine A und B (Ausgangswert = 100 %)

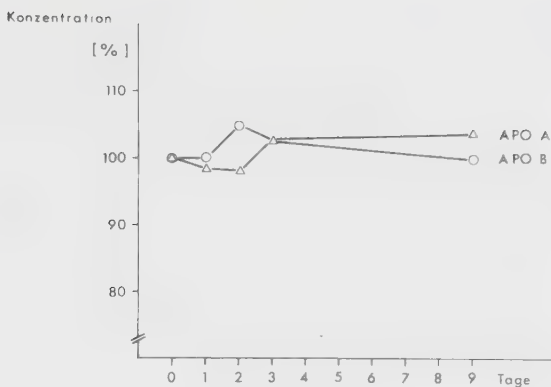


Abb. 7: Einfluß der Lagerdauer bei Gefriertemperatur (-20°C) auf die Messung der Apolipoproteine A und B (Ausgangswert = 100 %)

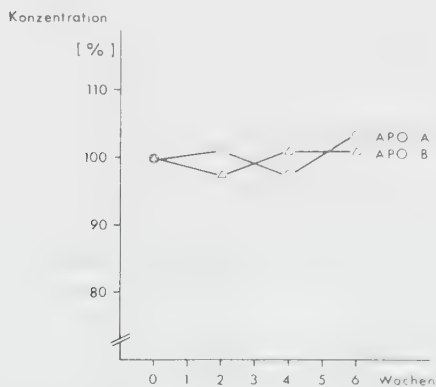


Abb. 8: Einfluß der Langzeitlagerung bei Gefriertemperatur (-20°C) auf die Messung der Apolipoproteine A und B (Ausgangswert = 100 %)

7. Literaturverzeichnis

1. Albers, J.; Cheung, M. C.; Wahl, P. W.:
Effect of storage on the measurement of apolipoproteins A-I and A-II by radial immunodiffusion
Jour. of Lip. Res. 21 (1980) 874
2. Anderson, D. W.; Nichols, A. V.; Pan, S. S.;
Lindgren, F. T.:
High density lipoprotein distribution - resolution
and determination of three major components in a
normal population sample
Atherosclerosis 29 (1978) 161
3. Armstrong, M. L.:
Evidence of regression of atherosclerosis in primates and man
Postgrad. Med. J. 52 (1976) 456
4. Avogaro, P.; Bittolo Bon, G.; Cazzolato, G.; Quin-
ci, G. B.:
Are apolipoproteins better discriminators than li-
pids for atherosclerosis ?
Lancet I (1979) 901
5. Barndt, R. Jr.; Blankenhorn, D. M.; Crawford, D. W.
et al.:
Regression and progression of early femoral atherosclerosis in treated hyperlipoproteinemic patients
Ann. Intern Med. 86 (1977) 139

6. Becker, W.; Schäfer, W.; Ziegenbein, W.:
Die immunchemische Bestimmung der Apolipoproteine
A und B: Standardisierung und Normalwerte
Laboratoriumsblätter 30 (1980) 56
7. Bradby, G. V. H.; Valente, A. J.; Walton, K. W.:
Serum high density lipoproteins in peripheral vas-
cular disease
Lancet II (1978) 1271
8. Carlson, L. A.; Böttiger, L. E.:
Ischemic heart-disease in relation to fasting
values of plasma triglycerides and cholesterol
Lancet I (1972) 865
9. Castelli, W. P.; Doyle, J. T.; Gordon, T.; Hames,
C.G.; Hjortland, M. C.; Hully, S. B. Kagan, A.;
Zukel, W.:
HDL cholesterol and other lipids in coronary heart
disease. The cooperative lipoprotein phenotyping
study
Circulation 55 (1977) 767
10. Dawber, T. R.; Wolf, Ph. A.; Colton, Th.; Nicher-
son, R. J.:
Risk factors. Comparison of the biological data in
myocardial and brain infarctions. In:
Zülch, K. J. et al.: Brain and Heart Infarct,
Springer Berlin-Heidelberg-New York, 1977, S. 226
11. Girault, A.; Loiseau, D.; Girault, M.:
Die quantitative Bestimmung von Apolipoprotein A
im Humanserum mittels Laser-Nephelometrie
Laboratoriumsblätter 4 (1980) 143

12. Glueck, C. J.:
Alpha-lipoprotein cholesterol, beta-lipoprotein
cholesterol, and longevity
Artery 2 (1976) 196
13. Gordon, T.; Castelli, W. P.; Hjortland, M. C.;
Kannel, W. B.; Dawber, T. R.:
High density lipoprotein as a protective factor
against coronary heart disease. The Framingham
study
Amer. J. Med. 62 (1977) 707
14. Hessler, J. R.; Robertson, A. L.; Chisolm, J. R.;
Chisolm, G. M.:
LDL-induced cytotoxicity and its inhibition by HDL
in human vascular smooth muscle and endothelial
cells in culture
Atherosclerosis 32 (1979) 213
15. Heuck, C. C.:
Apolipoprotein B
Lab. med. 2 (1978) 164
16. Kannel, W. B.; Castelli, W. P.; Gordon, T.; McNa-
mara, P. M.:
Serum cholesterol, lipoproteins, and the risk of
coronary heart disease. The Framingham study
Ann. Intern Med. 74 (1971) 1
17. Kannel, W. B.:
Some lessons in cardiovascular epidemiology from
Framingham
Amer. J. Cardiol. 37 (1976) 269

18. Kuller, L. H.:
Epidemiology of cardiovascular diseases: current perspectives
Amer. J. Epidem. 104 (1976) 425
19. Mertz, D. P.:
Atherosklerose-Index (LDL/HDL): Risikoindikator bei Störungen des Fettstoffwechsels
Med. Klin. 75 (1980) 159
20. Mertz, D. P.; Göhmann, E.; Ostertag, J.:
Differentialeinsatz von Apolipoproteinen und Lipoproteinen als Diskriminatoren für ein atherogenes Risiko
Med. Welt 32 (1981) 1611
21. Miller, G. J.:
High density lipoproteins and atherosclerosis
Ann. Rev. Med. 31 (1980) 97
22. Miller, N. E.; Forde, O. H.; Thelle, D. S.; Mjos, O. D.:
The Tromsø heart study: high - density lipoprotein and coronary heart-disease: a prospective case-control study
Lancet I (1977) 965
23. Ononogbu, J. C.:
High density lipoproteins in ischaemic heart disease
Experientia 33 (1977) 1063
24. Pometta, D.; Micheli, H.; Jarnot, C.:
HDL-cholestérol abaissé chez les proches parents et les malades victimes d'infarctus du myocarde
Schweiz. med. Wschr. 108 (1978) 1888

25. Richterich, R.:
Klinische Chemie, Verlag S. Karger, Basel 1971

26. Riesen, W. F.; Mordasini, R.; Salzmann, C.;
Theler, A.; Gurtner, H. P.:
Apoproteins and lipids as discriminators of
severity of coronary heart disease
Atherosclerosis 37 (1980) 157

27. Rotsztain, A.:
Risk factors and HDL (letter)
Circulation 57 (1978) 1032

28. Sailer, D.; Bachmann, K.; Kolb, S.; Mattenklodt,
A.:
Qualitative Bestimmung der Lipoproteine bei
angiographisch gesicherten Koronarveränderungen in
verschiedenen Altersgruppen, in:
Platt, D. (Hrsg.): Lipidstoffwechsel und Alter,
Werk Verlag Dr.Banaschewski, München-Gräfelfing
1983, S.43

29. Shepherd, J. Packard, C. J.; Stewart, J. M.;
Vallance, B. D.; Lawrie, T. D. V.; Morgan, H. G.:
The relationship between the cholesterol content
and subfraction distribution of plasma high-
density lipoproteins
Clin. chim. Acta 101 (1980) 57

30. Snidermann, A.; Shapiro, S.; Marpole, D.; Skinner,
B.; Teng, B.; Kwiterovich, P. O. Jr.:
Association of coronary atherosclerosis with
hyperapobetalipoproteinemia (increased protein but
normal cholesterol levels in human plasma low-den-

sidensity (beta)lipoprotein)

Proc. Nat. Acad. Sci. (USA) 77 (1980) 604

31. Stamler, J.:

Epidemiology of coronary heart disease

Med. Clin. North. Amer. 57 (1973) 5

32. Stein, O.; Vanderhoek, J.; Stein, Y.:

Cholesterol content and sterol synthesis in human skin fibroblast and rat aortic smooth muscle exposed to lipoprotein- depleted serum and high density apolipoprotein/phospholipid mixtures

Biochem. Biophys. Acta 431 (1976) 347

33. Vergani, C.; Trovato, G.; Dioguardi, N.:

Serum total lipids, lipoproteins cholesterol, Apoproteins A and B in cardiovascular disease

Clin. chim. Acta 87 (1978) 127

Danksagung:

Herrn Priv. Doz. Dr. med. D. Sailer, Leiter der Abteilung für Ernährung und Stoffwechsel in der Medizinischen Universitätsklinik in Erlangen, möchte ich meinen besonderen Dank für die Überlassung des Themas und die stets wertvolle und intensive Unterstützung bei der Durchführung meiner Arbeit aussprechen.

Herrn Prof. Dr. med. L. Demling, Direktor der Medizinischen Universitätsklinik Erlangen, danke ich für die Übernahme des Korreferates.

Besonders herzlich danke ich Herrn Dr. med. S. Kolb, der durch seine immer bereitwillige und hilfreiche Unterstützung zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat.

Ferner möchte ich meinen Dank Herrn Dipl.-Phys. Neuwirth für seine Beratung bei statistischen Problemen aussprechen.

L E B E N S L A U F

Name: Vieweg, geb. Jahnke
Vorname: Edith
Geburtsdatum: 8.6.1951
Geburtsort: Tröstau, Krs Wunsiedel (Bayern)
Verhehelichung: 19.3.1982 mit Dipl.-Ing. Michael Vieweg
Kinder: Lisa, geboren am 16.10. 1980
Eltern: Helmut Jahnke (DB-Beamter i. R.) und Frieda Jahnke

Werdegang:

1957 - 1962 Besuch der Volksschule in Unterröslau
1962 - 1971 Besuch des mathematisch-naturwissenschaftlichen Zweiges des Otto Hahn-Gymnasiums in Marktredwitz
19.6.1971 Erlangung der allgemeinen Hochschulreife
WS 71 - SS 73 Studium der Geologie an der Universität Erlangen-Nürnberg
SS 72 - SS 78 Studium der Chemie (Lehramt an Gymnasien) an der Universität Erlangen-Nürnberg
WS 73 - SS 78 Studium der Biologie (Lehramt an Gymnasien) an der Universität Erlangen-Nürnberg
SS 77 - WS 83 Studium der Medizin an der Universität Erlangen-Nürnberg
SS 78 1. Staatsexamen in Biologie und Chemie (Lehramt an Gymnasien)
März 1979 Ärztliche Vorprüfung
Aug. 1980 Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung
Aug. 1982 Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung
Nov. 1983 Dritter Abschnitt der ärztlichen Prüfung
Nov. 1983 Erteilung der Approbation

Erlangen, den 18.4. 1984

